

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET**  
**BIOLOŠKI ODSJEK**

**DUALNA ULOGA SIRUTINA 3 U KARCINOGENEZI**  
**DUAL ROLE OF SIRTUIN 3 IN CARCINOGENESIS**  
**SEMINARSKI RAD**

Ivan Ciganek

Preddiplomski studij molekularne biologije  
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: prof. dr. sc. Domagoj Đikić

Zagreb, 2019.

## Sadržaj:

1. Uvod .....	1
1.1. Sirtuini .....	1
1.2. Sirtuin 3 .....	1
1.3. Sirtuin 3 u karcinogenezi.....	2
2. Proliferacija raka i Sirt3 .....	4
3. Metabolizam i Sirt3 .....	5
4. Metastaziranje i Sirt3 .....	7
5. Upala i Sirt3 .....	9
6. Angiogeneza i Sirt3 .....	9
7. Dualnost Sirt3, terapija i budući ciljevi.....	10
8. Literatura .....	15
9. Sažetak .....	20
10. Summary .....	21

## 1. Uvod

### 1.1. Sirtuini

Sirtuini (Sirt) pripadaju skupini proteina konzerviranih u svim domenama života s  $\text{NAD}^+$ -ovisnom deacetilaznom te mono-ADP-ribozil transferaznom funkcijom. Prvi pronađen sirtuin, Sir2, koji djeluje kao histonska deacetilaza, otkriven je u kvascima gdje je utvrđena njegova uloga u utišavanju gena, popravku DNA, kromosomskoj stabilnosti i produživanju životnog vijeka kvasaca što su funkcije koje su potvrđene i za druge organizme. Detaljnije, sirtuini kataliziraju prijenos jedne acetilne skupine s lizina na međuprodukt, O-ADP-ribozu, nastao iz nikotinamid adenin dinukleotida ( $\text{NAD}^+$ ), a činjenica da ovise o  $\text{NAD}^+$  govori o važnosti ovog kofaktora u regulaciji aktivnosti sirtuina te povezuje aktivnost sirtuina s energetske statusom stanice, odnosno omjerom  $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}]$  <sup>1,2</sup>.

Sirtuini sisavaca obuhvaćaju sedam proteina (Sirt1-7) sa specifičnom lokacijom u tri različita unutarstanična odjeljka: jezgra, gdje su lokalizirani Sirt1, Sirt6 i Sirt7, citosol sa Sirt2, a ponekad i Sirt1 te mitohondriji u kojima su Sirt3, Sirt4 i Sirt5. Svaki Sirt sastoji se od konzervirane sekvence sačinjene od 275 aminokiselina koje čine katalitičku jezgru i jedinstvenih N- i C-terminalnih regija različitih duljina <sup>1</sup>. Sirtuini sudjeluju i acetilacijom moduliraju mnoge stanične puteve i procese kao što je moduliranje kromatinske strukture, popravak DNA, regulacija transkripcije, metabolizam, starenje, obrana od stresa, a sveobuhvatno rečeno, sudjeluju u održavanju metaboličke homeostaze. Gubitak ili promijenjena regulacija jednog ili više Sirt može rezultirati disfunkcionalnim procesima zbog kojih dolazi do metaboličkih oštećenja što u konačnici može dovesti do inicijacije tumora ili drugih bolesti vezanih uz starenje <sup>3,4</sup>. Također, neka istraživanja naglašavaju i nove enzimske aktivnosti Sirt: primjerice, Sirt5 može djelovati kao demalonilaza i desukcinilaza čime se omogućuju dodatni mehanizmi regulacije metabolizma <sup>5</sup>.

### 1.2. Sirtuin 3

Sirt3 predstavlja glavnu mitohondrijsku deacetilazu koja je do sada najbolje opisana. Za njenu translokaciju u mitohondrij važan je N-terminus koji sadrži mitohondrijski lokalizacijski signal. Prilikom unosa dolazi do skraćivanja proteina proteolitičkim procesom koji ga aktivira <sup>3,6</sup>. Također, novija istraživanja upućuju i na prisutnost u jezgri, a moguća uloga je regulacija genske ekspresije nakon staničnog stresa <sup>7</sup>. Ipak, glavna uloga Sirt3 je u mitohondriju, a njegovu važnost potkrepljuju proteomske analize koje su ustanovile da je više od 20% mitohondrijskih proteina acetilirano, među kojima su enzimi ciklusa limunske kiseline, oksidativne fosforilacije,  $\beta$ -oksidacije i drugih, a mnogi od tih enzima aktiviraju se upravo

deacetilacijom koju pospješuje Sirt3<sup>8,9</sup>. Zato je Sirt3 jedan od ključnih regulatora metaboličkih procesa, kako na razini aktivnosti enzima tako i na razini stvaranja samih mitohondrija što je regulirano s PGC-1 $\alpha$  koji je glavni regulator mitohondrijske biogeneze. Odnosno PGC-1 $\alpha$  inducira ekspresiju Sirt3 što je ključno za efikasnu mitohondrijsku biogenezu PGC-1 $\alpha$ - ovisnim putem. Iz svega navedenog se u konačnici zaključuje kako Sirt3 doprinosi održavanju mitohondrijskog integriteta. Također aktivira i neke druge transkripcijske faktore, a ključnu ulogu ima i u obrani stanice od oksidativnog stresa deacetilirajući enzime antioksidativnog sustava kao što je mangan-ovisna superoksid dismutaza (MnSOD). Sirt3 je do sada jedini Sirt za kojeg je dokazana uloga u starenju, tj. dugovječnosti koja se povezuje s pojačanom aktivnosti Sirt3 koja se pak može postići povećanim razinama NAD<sup>+</sup> kroz kalorijsku restrikciju, gladovanje, tjelovježbom ili povećanjem ekspresije (što može biti i posljedica genetskih polimorfizama kod samog gena ili kod gena koji su uključeni u regulaciju Sirt3, a koji mogu rezultirati i povećanjem i smanjenjem ekspresije). S druge strane, smanjena ekspresija i aktivnost Sirt3 povezuje se s unosom hrane koja ima veliki udio masti<sup>2,8,10</sup>.

### **1.3. Sirtuin 3 u karcinogenezi**

Stanice raka odlikuju se samodostatnošću u signalima rasta (tj. stimulacijom vlastitog rasta), nesenzitivnosti na signale koji koče rast, izbjegavanjem apoptoze, beskonačnim replikativnim potencijalom, stimulacijom angiogeneze, metastaziranjem (invazija drugih tkiva), poremećenom regulacijom staničnog metabolizma (što se posebno odnosi na aerobnu glikolizu prisutnu u stanicama raka, tzv. Warburg efekt) te izbjegavanjem imunološkom sustavu zbog čega dolazi do upale i nastanka genomske nestabilnosti<sup>11,12</sup>. Budući da sirtuini, s naglaskom na Sirt3, djeluju kao regulatori mnogobrojnih staničnih procesa i puteva, sve se više raspravlja o ulozi Sirt3 u karcinogenezi s obzirom da regulira i staničnu smrt i preživljavanje. Od navedenih svojstava raka, Sirt3 se najviše dovodi u vezu s izbjegavanjem apoptoze, replikativnim potencijalom, genomskom nestabilnošću te posebno poremećenim staničnim metabolizmom jer upravo Sirt3 regulira aktivnost mnogobrojnih enzima raznih metaboličkih puteva. Interesantno je da, ovisno o specifičnom staničnom kontekstu kao i eksperimentalnim uvjetima, Sirt3 pokazuje ili onkogeno ili tumor-supresorska svojstva<sup>13</sup>. Primjerice, pokazano je da u nekim tipovima raka (npr. neki tipovi raka crijeva, želuca, bubrega...) Sirt3 djeluje kao onkogen tako što pojačanom aktivnošću održava nisku razinu reaktivnih kisikovih vrsta (RKV) čime se, među ostalim, onemogućava apoptoza i podržava proliferacija. Nasuprot tome, u drugim oblicima raka opažena je tumor-supresorska uloga –

konkretno, stanice raka dojke pokazuju nižu razinu ekspresije Sirt3 zbog čega se ekspresija Sirt3 može koristiti kao marker uznapredovalosti ovog oblika raka tako da u uznapredovanim stadijima gotovo uopće nema ekspresije <sup>14,15</sup>.

Također, dualnost Sirt3 u karcinogenezi uočava se i kroz njegovu interakciju s p53 proteinom (kodiranim *TP53* genom), kojeg Sirt3 ovisno o staničnim uvjetima može aktivirati ili inhibirati što je važno naglasiti jer se upravo p53 desetljećima smatrao kao ultimativni tumor-supresor koji uzrokuje staničnu smrt stanica raka kroz apoptozu. No, s vremenom je postalo poznato kako p53 ima i druge funkcije osim „čuvara“ genoma jer sudjeluje u regulaciji proteostaze, homeostaze, metabolizma, diferencijacije, proliferacije i dr. Isto tako, podaci ukazuju kako su mutacije u *TP53* genu vezane uz poremećaj staničnog ciklusa povezane uz čak 80% svih tumora, zato je u mnogim oblicima raka cilj terapijske intervencije upravo obnavljanje funkcije p53, što je moguće postići i kroz modulaciju ekspresije ili aktivnosti Sirt3 <sup>3,16</sup>.

Procijenjeno je kako je samo u 2018. godini širom svijeta došlo do pojave raka u 18,1 milijuna ljudi te da je rak bio uzrok smrti 9,6 milijuna ljudi što sugerira da su različiti oblici raka jedan od najčešćih uzroka smrtnosti širom svijeta neovisno o stupnju napretka <sup>17</sup>. Zato se godinama sve više napora ulaže kako bi se dobio bolji uvid u različite aspekte ove maligne bolesti. Tako je cilj i ovog rada raspraviti uloge proteina Sirt3 kao jednog od važnih regulatora staničnih procesa u biologiji raka što bi doprinijelo boljem razumijevanju incidencije i uznapredovanja raka. Odnosno, ideja je objediniti poznate podatke o ulozi Sirt3 kod različitih tipova raka te navesti različite molekularne i stanične procese stanica raka s naglaskom na ulogu Sirt3 koji sa svojim proonkogenim i/ili tumor-supresorskim svojstvima može djelovati na ishod karcinogeneze. Razumijevanje mehanizama koji reguliraju ovu dualnu aktivnost važno je u svrhu razvijanja novih terapeutika protiv raka baziranih na sirtuinima.

## 2. Proliferacija raka i Sirt3

Razvoj i progresija tumora veoma je složen proces koji obuhvaća različite faktore u više faza prilikom kojih dolazi do staničnih i genetskih promjena koji rezultiraju malignom transformacijom stanica što dovodi do razvoja tumora. Stanična proliferacija u normalnim se stanicama kontrolira stvaranjem i oslobađanjem proliferativnih i antiproliferativnih signala, stoga je održavanje ravnoteže između navedenih signala ključno za održavanje normalnog razvoja. Međutim, kod stanica raka ravnoteža je narušena i okrenuta na stranu nekontrolirane proizvodnje različitih proliferativnih signala <sup>12</sup>. Neka istraživanja naglašavaju da Sirt3 podržava progresiju određenih tipova raka, dok druga ukazuju na smanjenje proliferativnog potencijala do čega se dolazi različitim mehanizmima.

Kod raka pluća ne-malih stanica (engl. *non-small cell lung cancer*, NSCLC) (i kod stanične linije kao i kod pacijenata) dolazi do povećanja ekspresije Sirt3 koja korelira sa stupnjem malignosti ovog tipa raka, tj. primijećeno je da Sirt3 aktivira Akt signalizacijske puteve koji su tipični onkogeni putevi u različitim oblicima raka pa tako povećane količine ekspresije Sirt3 rezultiraju smanjenjem vremena preživljenja pacijenata s NSCLC <sup>18,19</sup>. Drugo istraživanje na uzorcima NSCLC stanica deficijentnih za PTEN (tumor-supresor s različitim antitumorskim funkcijama) utvrdilo je da Sirt3 potiče proteosomalnu degradaciju p53 čime se dodatno promovira malignost takvih stanica <sup>20</sup>. S druge strane, kod raka pluća malih stanica (engl. *small-cell lung cancer*, SCLC) pokazano je kako nadekspresija Sirt3 kao i tretman adjudinom, potencijalnim antitumorskim lijekom koji aktivira Sirt3, rezultira pokretanjem FOXO3a-ovisne supresije rasta i zastoja u proliferaciji SCLC stanica kao i povećanu apoptozu. Također, prisutan je sinergistički efekt adjudina s paclitakselom u uvjetima *in vitro* i *in vivo*, tj. tretman kombinacijom ovih terapeutika rezultirao je manjim i rjeđim tumorima kod miševa. Navedeni rezultati upućuju na tumor-supresorsku ulogu Sirt3 u SCLC, a primijećeno je da ljudi s većom ekspresijom Sirt3 pokazuju bolju prognozu preživljenja <sup>21</sup>. Kod stanica rak debelog crijeva (engl. *colorectal cancer*, CRC) pokazano je da *knockdown* Sirt3 dovodi do povećanih razina RNV-a što prati smanjena vijabilnost stanica te veća stopa apoptoze što upućuje na proonkogeni ulogu Sirt3 u ovom tipu raka tako da kroz aktivaciju antioksidativnog sustava (npr. MnSOD) održava nisku razinu RNV-a. Nadalje, utišavanje Sirt3 uz tretman s citotoksinom oksaliplatinom također je rezultiralo pojačanom proizvodnjom RNV-a (uslijed smanjenja ekspresije antioksidativnih enzima posredovanih smanjenom aktivacijom FOXO3a transkripcijskog faktora) i apoptozom <sup>22</sup>. U ovom slučaju povećane razine Sirt3 povezane su s lošom prognozom u napretku CRC jer Sirt3 sprečava

apoptozu te podržava proliferaciju stanica <sup>22,23</sup>. No druga istraživanja na raku debelog crijeva izvedena u drugačijim uvjetima ukazuju i na tumor-supresorsku ulogu Sirt3 u ovom tipu raka kroz negativnu regulaciju RKV-a i HIF-1 $\alpha$ , a nedavno istraživanje naglašava interakciju Sirt3 s crijevnom mikroflorom kao tumor-supresorski mehanizam <sup>24,25</sup>. Kod pacijenata s rakom pankreasa uočeno je smanjenje ekspresije Sirt3 što doprinosi daljnjoj progresiji tumora zbog čega se u ovom slučaju o Sirt3 govori kao o tumor-supresoru, a čak se predlaže i kao marker za procjenu uznapređovalosti tumora i prognoze <sup>26</sup>. Nadalje, razina ekspresije Sirt3 može utjecati na pojavu i razvoj raka jetrenih stanica (engl. *hepatocellular carcinoma*, HCC), tj. kod pacijenata su utvrđene niske razine ili izostanak ekspresije Sirt3 u HCC. Vraćanje ekspresije Sirt3 kod HCC, rezultiralo je inhibicijom rasta stanica te pojačanom apoptozom. Dobiveni podaci upućuju da je mehanizam vezan uz pojačanu aktivaciju MnSOD, p53 te Bax proteina i Fas receptora koji su ključni regulatori apoptoze <sup>27</sup>.

### 3. Metabolizam i Sirt3

Tumorskim stanicama, za razliku od normalnih, potrebno je više energije kako bi mogle proliferirati. Na temelju toga Otto Warburg zaključio je da stanice raka preferentno koriste aerobnu glikolizu kao izvor ATP-a umjesto oksidativne fosforilacije (OXFOS) što je adaptivni mehanizam za zadovoljavanje biosintetskih potreba nekontrolirano proliferirajućih stanica. Također, pri tome dolazi i do promjene unutarstanične signalizacije i mikrokoliša (acidifikacije) što također pogoduje razvoju raka <sup>28</sup>. Iz toga se može zaključiti kako mitohondrijski metabolizam u velikoj mjeri može utjecati na progresiju tumora. Pokazano je da je upravo Sirt3 važan regulator Warburg efekta tako da sudjeluje u metaboličkom reprogramiranju destabilizirajući HIF-1 $\alpha$  koji regulira ekspresiju glikolitičkih gena, tj. u slučaju gubitka Sirt3 aktivnosti, rastu RKV što dovodi do HIF-1 $\alpha$  stabilizacije <sup>29</sup>.

Istraživanja na stanicama raka jajnika *in vitro* pokazala su kako 10 mM metformin, inače često korišteni terapeutik kod dijabetesa, regulator stanične bioenergetike i aktivator AMPK, povećava ekspresiju Sirt3 čija povećana aktivnost dovodi do metformin-induciranog tumor-supresorskog efekta. Također, kod navedenih stanica raka jajnika utvrđeno je kako nadekspresija Sirt3 povećava metformin-induciranu apoptozu, mitohondrijsku disfunkciju i energetske stres, vjerovatno putem aktivacije AMPK. Ovi podaci upućuju na tumor-supresorsku ulogu Sirt3 kod raka jajnika <sup>30</sup>. Pokusi s nadeksprimiranim Sirt3 u stanicama raka dojke (koje inače pokazuju malu ili izostanak endogene ekspresije Sirt3) pokazali su da dolazi do metaboličkog prijelaza s glikolize (smanjenje LDH-A, markera glikolize) na oksidativnu fosforilaciju PGC-1 $\alpha$ -ovisnim putem što rezultira smanjenjem nutrijenata za biosintezu koji se

inače dobivaju glikolizom pa takve stanice imaju manji proliferativni potencijal. Ovim istraživanjem pokazano je da je Sirt3-ovisno metaboličko reprogramiranje značajno tumorsupresorsko svojstvo kod MCF-7 stanične linije raka dojke. Tretman hiperoksijom (povećanom koncentracijom kisika (95% O<sub>2</sub>) u trajanju od 44h) u navedenim stanicama također je rezultirao smanjenom proliferacijom i pojačanom senescencijom stanica uslijed mitohondrijske disfunkcije kao i aktivacije p53<sup>31</sup>. Nasuprot ovim rezultatima, drugo istraživanje naglašava proonkogenu ulogu Sirt3 kod pacijenata s uznapredovanim stadijima raka dojke kao i kod MCF-7 stanične linije, tj. utišavanjem ekspresije Sirt3 stanice postanu osjetljivije na tretmane citotoksinima cisplatinom i tamoksifenom, odnosno pokazuju manju vijabilnost i povećanu produkciju RKV-a što je u slučaju cisplatina rezultiralo apoptozom, a tamoksifena autofagijom<sup>32</sup>. Ovako dobiveni kontradiktorni rezultati vjerovatno se mogu objasniti velikom heterogenošću korištenih tumorskih stanica, tj. MCF-7 stanice koje su koristili istraživački timovi ne potječu iz istih baza. Također, ovi rezultati dodatno naglašavaju i potvrđuju dualnu ulogu Sirt3 u karcinogenezi te ukazuju na potrebu za novim i opsežnijim istraživanjima.

Nadalje, kod pacijenata s kolangiokarcinomom (rak žučnih vodova, CCA) utvrđena je značajno smanjena ekspresija Sirt3 te takve stanice preferiraju aerobnu glikolizu kao metabolički put. Nadekspresija Sirt3 ili aktivacija pomoću organskog spoja honokiola rezultirala je inhibicijom glikolize (putem inhibicije puta HIF1 $\alpha$ /PDK1/PDHA1) i izvanstanične acidifikacije te povećanom stopom oksidativne fosforilacije čime se smanjuje proliferacija CCA. Ovi podaci ukazuju na tumor-supresorsku ulogu Sirt3 kod kolangiokarcinoma putem reprogramiranja metabolizma<sup>33</sup>. Veza između staničnog metabolizma i raka uočena je i na stanicama oralnog, tj. raka jezika. Konkretno, utišavanje Sirt3 sa siRNA kod navedenih stanica rezultiralo je aktivacijom Fis1-ovisne mitohondrijske fisije što je način pokretanja mitohondrijski ovisne apoptoze posredovane kaspazom-9, a pri tom dolazi i do smanjenja membranskog potencijala kao i smanjenja ATP proizvodnje. Naime, Sirt3 kod stanica raka jezika inhibira Fis1 putem aktivacije MAPK-JNK signalnog puta koji je također uključen i u održavanje mitohondrijskih funkcija i preživljavanje stanica. Temeljem ovog zaključuje se da kod stanica raka jezika Sirt3 ima proonkogenu ulogu, a tumor-supresorski efekti uočavaju se utišavanjem Sirt3 putem mehanizma koji ovisi o metaboličko-mitohondrijskom putu<sup>34</sup>. Proonkogena svojstva Sirt3, koji ima povećanu aktivnost kod raka debelog crijeva, zapažena su i na metaboličkoj razini. Naime, osim toga što utišavanje Sirt3 kod ovog tipa raka smanjuje vijabilnost i proliferaciju, također dolazi i do apoptoze ovisne o mitohondrijima. Odnosno, Sirt3 i u ovom slučaju regulira mitohondrijsku fisiju i vezanu apoptozu putem kaspaze-9, ali u ovom slučaju preko Akt/PTEN signalnog puta<sup>35</sup>. Nadalje, u drugom istraživanju pokazano je da *knockdown* Sirt3 vodi smanjenju mitohondrijske



biogeneze i integriteta te mitohondrijskoj disfunkciji čime se u konačnici smanjuje stanična vijabilnost <sup>36</sup>.

#### 4. Metastaziranje i Sirt3

Osnovno svojstvo invazivnih tipova raka je metastaziranje koje proizlazi iz procesa tranzicije epitelnih stanica u mezenhimske (engl. *epithelial-mesenchymal transition*, EMT) koje imaju veći migracijski i invazivni potencijal. EMT je reverzibilni stanični proces uzrokovan epigenetskim reprogramiranjem genske ekspresije uslijed kojeg dolazi do promjene ekspresije proteina uključenih u adheziju među stanicama kao i stanica i izvanstaničnog matriksa (što je uzrokovano gubitkom E-kadherina) prilikom čega se one odvajaju u krvne ili limfne žile. Održavanje stabilnog mezenhinskog fenotipa koji podrazumijeva sposobnost preživljavanja tumorskih stanica u krvotoku ovisi o stupnju acetilacije histona zbog čega se raspravlja o ulozi sirutina kao važnih epigenetičkih modulatora u aktivaciji i održavanju EMT i metastaziranja <sup>3,12</sup>. Nekoliko istraživanja pokazuje da je nuklearni Sirt1 uključen u EMT tako da inaktivira ekspresiju E-kadherina putem regulacije različitih transkripcijskih faktora u različitim tipovima raka, što se povezuje s lošom prognozom <sup>3</sup>. Nadalje, Sirt3 posrednom aktivacijom nekih signalnih puteva ili transkripcijskih faktora te kroz regulaciju količine RKV može sudjelovati u regulaciji metastaziranja, iako za neke tipove raka mehanizam i dalje nije poznat <sup>37</sup>. Ipak, kod pacijenata s NSCLC pokazano je kako razina ekspresije Sirt3 korelira s metastaziranjem limfnih čvorova, dok kod raka dojke dolazi do značajnog smanjena ekspresije Sirt3 kod velike malignosti zbog čega se Sirt3 nameće kao tumor-specifični faktor za prognoziranje stupnja malignosti <sup>19,37</sup>.

Na *in vivo* i *in vitro* sustavima uočena je uloga Sirt3 u EMT i metastaziranju kod raka prostate. Naime, nadekspresija Sirt3 inhibira EMT kod stanica raka prostate, odnosno dolazi do povećane ekspresije E-kadherina te smanjenja ekspresije N-kadherina i vimentina, a u slučaju utišavanja Sirt3 potiče se EMT (smanjenje ekspresije E-kadherina). Istraživanje ukazuje na to da Sirt3 inhibira EMT putem regulacije FOXO3a transkripcijskog faktora, tj. Sirt3 povećava aktivnost FOXO3a tako da inhibira Wnt/ $\beta$ -katenin signalni put. Budući da je razina Sirt3 znatno smanjena u metastatskom tkivu prostate čovjeka, a prisutnost Sirt3 vezana je uz inhibiciju metastaze raka prostate *in vitro* i *in vivo*, može se govoriti o tumor-supresorskoj, tj. protumetatskoj ulozi Sirt3 kod ovog tipa raka <sup>38</sup>. I u slučaju raka jajnika također je utvrđena značajno manja ekspresija Sirt3 u metastatskim tkivima, a u slučaju *in vitro* testova na stanicama raka jajnika s *knockdown* Sirt3 zabilježena je pojačana invazija i migracija stanica (smanjenje ekspresije E-kadherina) te pojačano metastaziranje jetre u *in vivo*

sustavu. Nasuprot tome, nadekspresija Sirt3 ponovno suprimira metastatske sposobnosti ovog tipa raka, a smatra se da je u mehanizam EMT ovisan o Sirt3 kod raka jajnika tako da on smanjuje ekspresiju faktora Twist koji je, među ostalim faktorima, uključen u regulaciju ekspresije E-kadherina <sup>39</sup>. Međutim, kad jednom dođe do metastaziranja, uočena je prometastatska uloga Sirt3 kod raka jajnika, odnosno prilikom odvajanja stanica raka jajnika od matriksa dolazi do naglog porasta u ekspresiji Sirt3 koji dodatno aktivira SOD2-ovisno uklanjanje RKV, tj. mitohondrijskog oksidacijskog stresa čime se povećava sposobnost preživljavanja stanica bez usidrenja i peritonealna kolonizacija. Također je važna i Sirt3-ovisna regulacija metabolizma migrirajućih stanica raka jajnika kao odgovor na uvjete s promjenjivim nutrijentima kakvi su prisutni tijekom migracije <sup>40,41</sup>.

Kod raka pluća malih stanica (SCLC) pokazano je kako nadekspresija Sirt3 ili tretman adjudinom rezultiraju smanjenom migracijom stanica kao i pojačanom ekspresijom E-kadherina, no točan mehanizam i dalje nije poznat <sup>21</sup>. Nadalje, *in vitro* kao i *in vivo* istraživanja potvrdila su kako Sirt3 regulira metastaziranje raka dojke, odnosno njegovo supresorsko djelovanje na EMT i nastanak metastaza. Primjerice, u stanicama raka dojke s nadeksprimiranim Sirt3 dolazi do smanjenja markera EMT-a: vimentina i *slug*-a koji su vezani uz polarnost, pokretljivost i napredovanje EMT fenotipa <sup>31</sup>. Drugo istraživanje na raku dojke, koje inače pokazuje značajno smanjenje u ekspresiji Sirt3, pokazalo je da Sirt3 inhibira staničnu migraciju i formiranje metastaza smanjenjem količine RKV te inhibicijom Src/FAK prometstatskog signalnog puta. Potvrđeno je kako i nadekspresija Sirt3 inhibira formiranje metastaza *in vivo* <sup>37</sup>. Također kod raka jetrenih stanica (HCC) pokazano je kako Sirt3, kroz smanjenje aktivnosti uslijed promjene omjera  $[NAD^+]/[NADH]$  uzrokovane promjenom koncentracije  $Ca^{2+}$  kod poremećene ekspresije mitohondrijskog uniportera kalcija (MCU) u HCC, inhibira aktivnost SOD2 čime se povećava stvaranje RKV koji aktiviraju JNK signalni put uključen u migraciju i invaziju stanica raka. Odnosno, kod HCC Sirt3 regulacijom količine RKV može određivati metastaski potencijal ovog tipa raka te se još jednom zapaža njegova supresorska uloga <sup>42</sup>. Veza Sirt3 sa sposobnošću migracije, tj. metastaziranja uočena je i kod raka debelog crijeva. Konkretno, utišavanje Sirt3 pomoću siRNA rezultiralo je smanjenom migracijom stanica kao i sa smanjenom ekspresijom metastatskih gena EGFR i BRAF, a istraživanja ukazuju da Sirt3 djeluje inhibirajući Akt/PTEN signalni put, tj. utišavanjem Sirt3 smanjuje se fosforilacija Akt što prati smanjenje ekspresije PTEN <sup>35</sup>.

## 5. Upala i Sirt3

Sve više istraživanja ukazuje da upala kroz modulaciju staničnog mikrokoliša potpomaže razvoju tumora. Već je pokazano kako su neki sirtuini, uključujući Sirt1, Sirt6 i Sirt7 uključeni u proces upale te većinom pokazuju inhibitorni efekt na razvoj upale <sup>29</sup>. Iako neka dosadašnja istraživanja ukazuju na moguću regulatornu ulogu Sirt3 prilikom upalnih procesa, još nije razjašnjena potencijalna asocijacija između Sirt3, upale i tumora što ostaje područje koje se tek treba istražiti <sup>29</sup>. Ipak, utvrđeno je da su miševi s *knockout* Sirt3 izrazito podložni razvoju crijevne upale koja pogoduje nastanku ozbiljnijih tumora uslijed promjena u integritetu crijeva, p38 signalizacije i promjena u sastavu mikrobioma. Hipotetizira se kako Sirt3 utječe na integritet crijeva i podložnost kolitisu putem Claudin15 i STAT3 signalizacije. Dalje, transfer mikroflore iz Sirt3 *knockout* miševa u testne miševe koji imaju predispoziciju razvoja crijevnog tumora rezultirao je smanjenjem Sirt3 ekspresije te pojačanom upalom koja je vezana uz formiranje tumora. Istraživanje upućuje na obilnost bakterija *Escherichia/Shigella dysenteriae* u mikroflori Sirt3 *knockout* miševa koje potpomažu razvoju tumora crijeva jer mogu potaknuti aktivaciju p38 MAP kinaze. Također, utvrđen je i mali broj „povoljnih“ bakterija *Lactobacillus reuteri* i *Lactobacillus taiwanensis* koje mogu spriječiti smanjenje ekspresije Sirt3 i koje kroz interakciju sa Sirt3 mogu modulirati malignost tumora te smanjiti upalu. Iz navedenog proizlazi potencijalna tumor-supresorska kao i protuupalna uloga Sirt3, premda su potrebna daljnja istraživanja u ovom području <sup>24</sup>.

## 6. Angiogeneza i Sirt3

Kao i normalno tkivo, tumori imaju određene, uglavnom povećane potrebe za unosom nutrijenata i kisika te izbacivanjem metaboličkog otpada i ugljikovog dioksida. Kako bi se zadovoljile ove potrebe, dolazi do razvoja krvnih žila koje nastaju uslijed procesa angiogeneze koja se pokazala kao ključan korak u razvoju i progresiji tumora prema malignim oblicima. Aktivacija VGFR (engl. vascular endothelial growth factor) signalnog puta koja obuhvaća proteine koji potiču angiogenezu (npr. VEGF-A) kao i tirozin-kinazne receptore (VEGFR-1–3) koristi se kao marker angiogeneze <sup>12</sup>. Povezanost sirtuina i angiogeneze dobro je utvrđena za Sirt1 koji je visoko eksprimiran za vrijeme formiranja krvnih žila pa tako smanjenje ekspresije Sirt1 blokira angiogenezu i morfogenezu epitelnih stanica te dolazi i do smanjenja ekspresije drugih gena (npr. FOXO1) uključenih u razvoj žila <sup>29</sup>. Međutim, malo istraživanja je pokazalo direktnu ili čak indirektnu ulogu Sirt3 u regulaciji angiogeneze, osobito kod tumorskih stanica, budući da je najviše dosadašnjih istraživanja stavljalo fokus na vezu Sirt3 s angiogenezom kod krvožilnog sustava i kardiovaskularnih poremećaja <sup>43</sup>. Ipak,

kod nekih istraživanja na stanicama raka ispituju se i faktori angiogeneze kao markeri malignosti, ali mehanizmi i dalje nisu poznati. Primjerice, de *novo* ekspresija Sirt3 u stanicama raka dojke rezultirala je supresijom proangiogenih svojstva, tj. smanjenjem VEGFR-1 proteina u normoksičnim kao i u hiperoksičnim uvjetima <sup>31</sup>.

## **7. Dualnost Sirt3, terapija i budući ciljevi**

Velik broj znanstvenih istraživanja naglašava ulogu sirutina u karcinogenezi, a samim time i da bi mogli biti nove terapijske mete, ali i dalje ostaje kontroverzno kako točno sirutini sudjeluju u nastanku raka. U Tablici 1. navedene su do sada poznate uloge i mehanizmi kojim Sirt3 djeluje u karcinogenezi iz čega se zaključuje kako su različiti tumor-supresorski ili proonkogeni mehanizmi prisutni u različitim, ali i unutar istih tipova tumora što dodatno naglašava dualnost. Odnosno, kroz aktivaciju i inhibiciju različitih signalnih puteva i/ili transkripcijskih faktora (kao npr. Akt, Src/FAK, HIF-1 $\alpha$ , FOXO3a, p53 i dr.) kao i kroz regulaciju razine oksidativnog oštećenja Sirt3 može kontrolirati ishod karcinogeneze, tj. proliferaciju, metabolizam, metastaziranje i druge maligne procese kod različitih tipova raka.

Unatoč velikom broju istraživanja o dualnim efektima Sirt3 i njegovoj ulozi u karcinogenezi posebice kod tumora s najčešćom pojavnosti kao što su rak pluća, dojke i crijeva, potrebna su nova istraživanja, osobito *in vivo* koja bi detaljnije razjasnila kompleksnu ulogu Sirt3 u različitim tipovima raka i staničnom okolišu. U tome se nalazi i svojevrsno ograničenje ovog rada, budući da je velik broj literaturnih podataka temeljem na *in vitro* testovima. S druge strane, prednost ovog rada je u tome da omogućava uvid u generalno razumijevanje tumor-supresorske, odnosno proonkogene uloge Sirt3 kod različitih tipova raka. Ipak, u svrhu razvijanja novih terapeutika protiv raka baziranih na sirutinu potrebno je poznavati točne mehanizme djelovanja i ciljane molekule te imati dovoljan broj podataka dobivenih *in vivo* eksperimentima. Već je navedeno kako je rak jedan od najčešćih uzroka smrti diljem svijeta, a razvoj novih, specifičnih terapeutika od velike je važnosti kako bi se izbjegle nespecifične terapije koje štete i zdravim tkivima te kako bi se riješio problem gubitka djelotvornosti mnogih lijekova protiv raka. Također, bolje razumijevanje regulacije i funkcije sirutina potencijalno bi pomoglo, ne samo kod tretiranja tumora, nego i kod bolesti vezanih uz starenje. Ipak, zbog navedene dualne uloge sirutina, takve terapije mogle bi nositi i neželjene nuspojave. Međutim, razvojem jedinstvenih biomarkera za svaki tip raka kao i razvojem novih strategija liječenja (npr. RNA interferencija) koje uključuju dostavljanje lijeka na točno definirano mjesto mogao bi se minimalizirati problem dualne uloge sirutina. Do sada je razvijeno i testirano nekoliko inhibitora sirutina *in vitro*, neki od njih testirani su i *in vivo* za

tretman bolesti vezanih uz starenje, među kojima je i rak, a u tijeku je i kliničko istraživanje na pacijentima s rakom pluća ne-malih u kojem se koristi nikotinamid, inhibitor sirutina pa tako i Sirt3<sup>3,29</sup>. Aktivator Sirt1 i Sirt3, resveratrol inače prirodni polifenolski spoj koji se nalazi u crvenom grožđu i crvenom vinu, pokazao se u mnogim istraživanjima kao antikancerogeni, protuupalni agens s mnogobrojnim terapijskim prednostima zbog čega se testira i u kliničkim studijama, uglavnom za bolesti vezane uz starenje (kardiovaskularne i neurodegenerativne bolesti, dijabetes...). Navedene terapijske koristi resveratrola barem su djelomično zbog aktivacije Sirt3, ali i dalje ostaje nerazjašnjeno jesu li ovi efekti posredovani direktnim ili indirektnim mehanizmima<sup>29,44,45</sup>.

Na kraju, mnoga pitanja ostaju neodgovorena kao npr. kako Sirt3 djeluje na karcinogenezu drugih oblika tumora, koji su točni signalni putevi djelovanja te mogu li se sirutini, s naglaskom na Sirt3, uopće koristiti kao terapijske mete. Ipak, kako se sve više proučavaju postojeće baze podataka ljudskog genoma kao i zapisi pacijenata oboljelih od raka te s porastom broja istraživanja na *knockout* i transgeničnim miševima, ova pitanja, ali i mnoga druga vezana uz Sirt3, uskoro bi mogla biti odgovorena.

**Tablica 1.** Uloga Sirt3 u različitim tipovima tumora.

TIP TUMORA	ULOGA SIRT3	MEHANIZAM DJELOVANJA	REFERENCE
<b>Raka pluća ne-malih stanica (NSCLC)</b>	Proonkogena (kod proliferacije raka)	Povećana ekspresija Sirt3 koji djeluje Akt signalnim putem i degradacijom p53.	18, 19, 20
<b>Rak pluća malih stanica (SCLC)</b>	Tumor-supresorska (kod proliferacije raka)	Aktivacija adjudinom ili nadekspresija rezultiraju FOXO3a-ovisnom supresijom rasta i apoptozom.	21
	Supresor metastaziranja	Nadekspresija Sirt3 ili tretman adjudinom rezultiraju pojačanom ekspresijom E-kadherina, a mehanizam ostaje nepoznat.	21
<b>Rak debelog crijeva (CRC)</b>	Proonkogena i tumor-supresorska (kod proliferacije raka)	Proonkogena: <i>knockdown</i> Sirt3 dovodi do smanjenja aktivnosti MnSOD i povećanih razina RKV-a što prati smanjena vijabilnost. Tumor-supresorska: Sirt3 negativno regulira RKV-a i HIF1- $\alpha$ .	22, 23, 24, 25
	Proonkogena (ovisna o metabolizmu)	Utišavanje Sirt3 aktivira mitohondrijsku fisiju i vezanu apoptozu putem kaspaze-9 preko Akt/PTEN signalnog puta te vodi smanjenju mitohondrijske biogeneze te mitohondrijskoj disfunkciji.	35, 36
	Supresor metastaziranja	Utišavanje Sirt3 rezultira smanjenom ekspresijom gena EGFR i BRAF, vjerovatno Akt/PTEN signalnim putem.	35
	Protuupalna uloga i tumor-supresorska	Kroz interakciju s crijevnom mikroflorom Sirt3 regulira STAT3 i p38 signalizaciju.	34

<b>Rak jetre</b>	Tumor-supresorska (kod proliferacije raka)	Nadekspresija Sirt3 putem aktivacije MnSOD, p53 te Bax proteina i Fas receptora pokreće apoptozu.	27
	Supresor metastaziranja	Manja aktivnost Sirt3 smanjuje aktivnost SOD2 čime se povećava stvaranje RKV koji aktiviraju JNK signalni put uključen u migraciju i invaziju stanica raka.	42
<b>Rak jajnika</b>	Tumor-supresorska (ovisna o metabolizmu)	Metmorfin aktivira AMPK te povećava ekspresiju Sirt3 čija povećana aktivnost dovodi do mitohondrijske disfunkcije i supresije rasta.	30
	Supresor metastaziranja i prometastatska (ovisno o fazi)	Supresor metastaziranja: nadekspresija Sirt3 suprimira EMT smanjujući ekspresiju faktora Twist uključen u regulaciju E-kadherina. Prometastatska uloga (u uznapredovanom stadiju metastaziranja): aktivacija Sirt3 aktivira SOD2-ovisno uklanjanje RKV-a čime se povećava vijabilnost stanica bez usidrenja.	39, 40, 41
<b>Rak dojke</b>	Tumor-supresorska (ovisna o metabolizmu) i proonkogen (kod proliferacije raka)	Nadekspresija Sirt3 potiče prijelaz s glikolize na OXFOS PGC1- $\alpha$ -ovisnim putem i zastoj rasta..	31, 32
	Supresor metastaziranja	Sirt3 inhibira formiranje metastaza smanjenjem količine RKV te inhibicijom Src/FAK signalnog puta.	31, 37

<b>Rak žučnih vodova (CCA)</b>	Tumor-supresorska (ovisna o metabolizmu)	Nadekspresija Sirt3 ili aktivacija honokiolom inhibira glikolizu (inhibicijom puta HIF1 $\alpha$ /PDK1/PDHA1) te povećava stopu OXFOS čime se smanjuje proliferacija.	33
<b>Oralni rak (rak jezika)</b>	Proonkogen (ovisna o metabolizmu)	Utišavanje Sirt3 rezultira aktivacijom Fis1-ovisne mitohondrijske fisije i pokretanjem mitohondrijski ovisne apoptoze posredovane kaspazom-9.	34
<b>Rak prostate</b>	Supresor metastaziranja	Nadekspresija Sirt3 inhibira EMT putem povećane aktivnosti FOXO3a uslijed inhibicije Wnt/ $\beta$ -katenin signalnog puta..	38



## 8. Literatura

1. Michan, S. & Sinclair, D. Sirtuins in mammals: insights into their biological function. *Biochemical Journal* **404**, 1–13 (2007).
2. Ozden, O. & Tural, K. Changes in the Expression and the Role of Sirtuin 3 in Cancer Cells and in Cardiovascular Health and Disease. u *Gene Expression and Regulation in Mammalian Cells - Transcription Toward the Establishment of Novel Therapeutics*, Fumiaki Uchiumi (ed.), IntechOpen (2018).
3. Carafa, V., Altucci, L. & Nebbioso, A. Dual Tumor Suppressor and Tumor Promoter Action of Sirtuins in Determining Malignant Phenotype. *Frontiers in Pharmacology* **10**, 1–14 (2019).
4. Vassilopoulos, A., Wang, R. & Gius, D. Mammalian Sirtuins, Cellular Energy Regulation, and Metabolism, and Carcinogenesis. u *Introductory Review on Sirtuins in Biology, Aging, and Disease*, Guarente, L., Mostoslavsky R. & Kazantsev, A. (eds.), Academic Press 141–154 (2018).
5. Du, J. *i ostali*. Sirt5 is a NAD-dependent protein lysine demalonylase and desuccinylase. *Science* **334**, 806–809 (2011).
6. Onyango, P., Celic, I., McCaffery, J., Boeke, J. & Feinberg, A. SIRT3, a human SIR2 homologue, is an NAD- dependent deacetylase localized to mitochondria. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **99**, 13653–13658 (2002).
7. Iwahara, T., Bonasio, R., Narendra, V. & Reinberg, D. SIRT3 Functions in the Nucleus in the Control of Stress-Related Gene Expression. *Molecular and Cellular Biology* **32**, 5022–5034 (2012).
8. Giralt, A. & Villarroya, F. SIRT3, a pivotal actor in mitochondrial functions: metabolism, cell death and aging. *Biochemical Journal* **444**, 1–10 (2012).
9. Kim, S. C. *i ostali*. Substrate and functional diversity of lysine acetylation revealed by a proteomics survey. *Molecular cell* **23**, 607–18 (2006).
10. Palacios, O. M. *i ostali*. Diet and exercise signals regulate SIRT3 and activate AMPK and PGC-1alpha in skeletal muscle. *Aging* **1**, 771–783 (2009).

11. Hanahan, D. & Weinberg, R. The Hallmarks of Cancer. *Cell* **100**, 57-70 (2000).
12. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* **144**, 646–74 (2011).
13. Alhazzazi, T. Y., Kamarajan, P., Verdin, E. & Kapila, Y. L. SIRT3 and cancer: Tumor promoter or suppressor? *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer* **1816**, 80–88 (2011).
14. Torrens-Mas, M., Oliver, J., Roca, P. & Sastre-Serra, J. SIRT3: Oncogene and tumor suppressor in cancer. *Cancers* **9**, 1–10 (2017).
15. Desouki, M. M., Doubinskaia, I., Gius, D. & Abdulkadir, S. A. Decreased mitochondrial SIRT3 expression is a potential molecular biomarker associated with poor outcome in breast cancer. *Human Pathology* **45**, 1071–1077 (2014).
16. McGowan, E. M., Lin, Y. & Hatoum, D. Good guy or bad guy? The duality of wild-type p53 in hormone-dependent breast cancer origin, treatment, and recurrence. *Cancers* **10**, 7–9 (2018).
17. Bray, F. *i ostali*. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **68**, 394–424 (2018).
18. Xiong, Y. *i ostali*. SIRT3 is correlated with the malignancy of non-small cell lung cancer. *International Journal of Oncology* **50**, 903–910 (2017).
19. Yang, G.-C. *i ostali*. The Expression and Related Clinical Significance of SIRT3 in Non-Small-Cell Lung Cancer. *Disease Markers* **2017**, 1–8 (2017).
20. Xiong, Y. *i ostali*. SIRT3 deacetylates and promotes degradation of P53 in PTEN-defective non-small cell lung cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* **144**, 189–198 (2018).
21. Wang, X. *i ostali*. Adjudin synergizes with paclitaxel and inhibits cell growth and metastasis by regulating the sirtuin 3–Forkhead box O3a axis in human small-cell lung cancer. *Thoracic Cancer* **10**, 642–658 (2019).

22. Torrens-Mas, M., Hernández-López, R., Oliver, J., Roca, P. & Sastre-Serra, J. Sirtuin 3 silencing improves oxaliplatin efficacy through acetylation of MnSOD in colon cancer. *Journal of Cellular Physiology* **233**, 6067–6076 (2018).
23. Liu, C., Huang, Z., Jiang, H. & Shi, F. The Sirtuin 3 Expression Profile Is Associated with Pathological and Clinical Outcomes in Colon Cancer Patients. *BioMed Research International* **2014**, 1–9 (2014).
24. Zhang, Y. *i ostali*. Crosstalk between gut microbiota and Sirtuin-3 in colonic inflammation and tumorigenesis. *Experimental & Molecular Medicine* **50**, 21 (2018).
25. Bell, E. L., Emerling, B. M., Ricoult, S. J. H. & Guarente, L. SirT3 suppresses hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  and tumor growth by inhibiting mitochondrial ROS production. *Oncogene* **30**, 2986–2996 (2011).
26. Huang, S. *i ostali*. Low SIRT3 expression contributes to tumor progression, development and poor prognosis in human pancreatic carcinoma. *Pathology - Research and Practice* **213**, 1419–1423 (2017).
27. Liu, Y., Liu, Y.-L., Cheng, W., Yin, X.-M. & Jiang, B. The expression of SIRT3 in primary hepatocellular carcinoma and the mechanism of its tumor suppressing effects. *European review for medical and pharmacological sciences* **21**, 978–998 (2017).
28. Liberti, M. V. & Locasale, J. W. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends in Biochemical Sciences* **41**, 211–218 (2016).
29. Alhazzazi, T. Y., Kamarajan, P., Verdin, E. & Kapila, Y. L. Sirtuin-3 (SIRT3) and the Hallmarks of Cancer. *Genes and Cancer* **4**, 164–171 (2013).
30. Wu, Y. *i ostali*. SIRT3 aggravates metformin-induced energy stress and apoptosis in ovarian cancer cells. *Experimental Cell Research* **367**, 137–149 (2018).
31. Pinterić, M. *i ostali*. De novo expression of transfected sirtuin 3 enhances susceptibility of human MCF-7 breast cancer cells to hyperoxia treatment. *Free Radical Research* **52**, 672–684 (2018).
32. Torrens-Mas, M., Pons, D. G., Sastre-Serra, J., Oliver, J. & Roca, P. SIRT3 Silencing Sensitizes Breast Cancer Cells to Cytotoxic Treatments Through an Increment in ROS Production. *Journal of Cellular Biochemistry* **118**, 397–406 (2017).

33. Xu, L. *i ostali*. SIRT3 elicited an anti-Warburg effect through HIF1 $\alpha$ /PDK1/PDHA1 to inhibit cholangiocarcinoma tumorigenesis. *Cancer Medicine* **8**, 2380–2391 (2019).
34. Zhou, J. *i ostali*. Sirtuin 3 inhibition induces mitochondrial stress in tongue cancer by targeting mitochondrial fission and the JNK-Fis1 biological axis. *Cell Stress and Chaperones* **24**, 369–383 (2019).
35. Wang, Y. *i ostali*. Sirt3-mediated mitochondrial fission regulates the colorectal cancer stress response by modulating the Akt/PTEN signalling pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **105**, 1172–1182 (2018).
36. Torrens-Mas, M. *i ostali*. Sirtuin 3 silencing impairs mitochondrial biogenesis and metabolism in colon cancer cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* ajpccell.00112.2019 (2019). doi:10.1152/ajpccell.00112.2019
37. Lee, J. J. *i ostali*. Inhibition of epithelial cell migration and Src/FAK signaling by SIRT3. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **115**, 7057–7062 (2018).
38. Li, R., Quan, Y. & Xia, W. SIRT3 inhibits prostate cancer metastasis through regulation of FOXO3A by suppressing Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Experimental Cell Research* **364**, 143–151 (2018).
39. Dong, X., Jing, L., Wang, W. & Gao, Y. Down-regulation of SIRT3 promotes ovarian carcinoma metastasis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **475**, 245–250 (2016).
40. Kim, Y. S. *i ostali*. Context-dependent activation of SIRT3 is necessary for anchorage-independent survival and metastasis of ovarian cancer cells. *bioRxiv* 670778 (2019). doi:10.1101/670778
41. Kim, Y. *i ostali*. Increased expression and activity of Sod2 promotes transcoelomic metastasis in ovarian cancer. *Free Radical Biology and Medicine* **128**, S68–S69 (2018).
42. Ren, T. *i ostali*. MCU-dependent mitochondrial Ca<sup>2+</sup> inhibits NAD<sup>+</sup>/SIRT3/SOD2 pathway to promote ROS production and metastasis of HCC cells. *Oncogene* **36**, 5897–5909 (2017).

43. He, X., Zeng, H. & Chen, J. Emerging role of SIRT3 in endothelial metabolism, angiogenesis, and cardiovascular disease. *Journal of Cellular Physiology* **234**, 2252–2265 (2019).
44. Ramírez-Garza, S. L. *i ostali*. Health Effects of Resveratrol: Results from Human Intervention Trials. *Nutrients* **10**, (2018).
45. Chen, Y. *i ostali*. Sirtuin-3 (SIRT3), a therapeutic target with oncogenic and tumor-suppressive function in cancer. *Cell Death and Disease* **5**, (2014).

## 9. Sažetak

Različiti oblici raka jedan od najčešćih uzroka smrtnosti širom svijeta, a s obzirom da mnogi terapeutici vremenom gube djelotvornost, potrebno je razviti nove strategije liječenja. Mnoga istraživanja pokazala da se potencijalne terapije raka mogu bazirati na manipulacijama nad Sirt3, NAD<sup>+</sup> ovisne deacetilaze dominantno smještene u mitohondrijima. Sirt3 kontrolira acetilacijski status proteina i tako regulira obranu stanice od stresa, produkciju reaktivnih kisikovih vrsta, metabolizam, ATP sintezu, stanični ciklus, apoptozu i proliferaciju zbog čega se naglašava njegova važna uloga u karcinogenezi. No, ovisno o specifičnom staničnom kontekstu, tj. vrsti raka kao i eksperimentalnim uvjetima, Sirt3 pokazuje ili onkogeni ili tumor-supresorska svojstva iz čega proizlazi njegova dualnost. Stoga je cilj ovog rada razjasniti uloge Sirt3 u biologiji raka te objediniti poznate podatke i mehanizme kojima Sirt3 svojim proonkogenim i/ili tumor-supresorskim svojstvima utječe na proliferaciju, metabolizam, metastaziranje, upalu i angiogenezu raka. Na temelju obrađenih podataka za desetak vrsta tumora, može se zaključiti kako su različiti tumor-supresorski ili proonkogeni Sirt3-ovisni mehanizmi prisutni u različitim, ali i unutar istih tipova tumora što dodatno naglašava dualnost. Odnosno kroz aktivaciju i inhibiciju različitih signalnih puteva i/ili transkripcijskih faktora kao i kroz regulaciju razine oksidativnog oštećenja Sirt3 može kontrolirati ishod karcinogeneze pa tako kod raka pluća ne-malih stanica i oralnog raka djeluje kao onkogen, a kod raka pluća malih stanica, raka jetre, žučnih vodova i prostate pokazana je tumor-supresorska uloga. Posebno se zanimljivi rezultati za rak debelog crijeva, jajnika i dojke kod kojih je u različitim eksperimentima potvrđena i proonkogeni i tumor-supresorska uloga unutar istog tipa raka.

## 10. Summary

Cancer is one of the most frequent causes of mortality worldwide, and because of many cancer therapeutics lose their efficiency with time, it is urgent to develop novel curing strategies. Many researches have shown that potential therapies could be based on Sirtuin 3 (Sirt3) manipulation. Sirt3 is  $\text{NAD}^+$  dependent deacetylase dominantly located in mitochondria that controls protein-acetylation status in cells, regulates cellular stress response, reactive oxygen species (ROS) production, cell metabolism, ATP synthesis, cell cycle, apoptosis and proliferation, thus having a very important role in tumorigenesis. However, depending on the cellular context, type of cancer and experimental conditions Sirt3 can have a dual role – it can act as oncogene and/or tumor suppressor. Therefore, aim of this paper is to elucidate roles of Sirt3 in cancer biology and to assemble known information and mechanisms on how Sirt3, with its oncogene or tumor suppressor properties, affects cancer proliferation, metabolism, metastasis, inflammation and angiogenesis. Based on processed data for several cancer types, it could be concluded that different oncogene or tumor suppressor Sirt3-dependent mechanisms are present in the different, but also within the same types of cancer, which further emphasizes duality of Sirt3. Thus, through activation or inhibition of various signaling pathways and/or transcriptional factors along with oxidative damage regulation, Sirt3 controls outcome of carcinogenesis. For instance, Sirt3 acts as oncogene in non-small cell lung cancer and oral cancer, whereas in small-cell lung cancer, hepatocellular carcinoma, cholangiocarcinoma and prostate cancer as tumor suppressor. Results for colorectal, ovarian and breast cancer are especially interesting because researches have shown that Sirt3 exhibits both oncogene and tumor suppressor role within the same cancer type.